

Generate Collection

L20: Entry 18 of 20

File: DWPI

Oct 28, 1997

DERWENT-ACC-NO: 1998-022239

DERWENT-WEEK: 199803

COPYRIGHT 2001 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Safe natural antibacterial agent used in mouth cleaners - contains
antibacterial extract of Piper betel prepared by extracting crude drug or dried
leaf of plant with water or organic solvent

PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE

CODE

SEISAN KAIHATSU KAGAKU KENKYUSHO

SEIS

PRIORITY-DATA: 1996JP-0113246 (April 9, 1996)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 09278666 A	October 28, 1997		004	A61K035/78

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP09278666A	April 9, 1996	1996JP-0113246	

INT-CL (IPC): A61K 7/26; A61K 35/78

ABSTRACTED-PUB-NO: JP09278666A

BASIC-ABSTRACT:

Antibacterial extract of Piper betel is prepared by extracting the crude drug or
dried leaf of the plant with water or an organic solvent. Also claimed is an
antibacterial agent containing the extract.

Preparation of the extract preferably comprises extracting the crude drug or
dried leaf of the plant with 20-40% ethanol and/or methanol and concentrating the
extracted solution. Solvents include water, ethanol, ethanol, isopropyl alcohol,
butanol, ethyl acetate or acetone.

USE - The extract is used in mouth cleaners and liquid dentifrice.

ADVANTAGE - The agent is highly safe and effective against harmful buccal
microorganisms particularly Fusobacterium nucleatum IID 891, Bacteroides
melaninogenicus GIFU 4637, Porphyromonas gingivalis GAI 7802 and Streptococcus
mutans IFO 13955.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: SAFE NATURAL ANTIBACTERIAL AGENT MOUTH CLEAN CONTAIN ANTIBACTERIAL
EXTRACT PIPE PREPARATION EXTRACT CRUDE DRUG DRY LEAF PLANT WATER ORGANIC SOLVENT

DERWENT-CLASS: B04 D21

CPI-CODES: B04-A08; B04-A09; B04-A10; B14-A01; B14-N06A; D08-A05;

CHEMICAL CODES:

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 *01*

Fragmentation Code

M423 M720 M903 N161 N512 P220 P923 Q254 V400 V404

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1998-008451

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-278666

(43)公開日 平成9年(1997)10月28日

(51)IntCl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	AD Z		A 6 1 K 35/78	AD Z C
// A 6 1 K 7/26	ACK		7/26	ACK

審査請求 未請求 請求項の数3 F D (全 4 頁)

(21)出願番号	特願平8-113246	(71)出願人	000002336 財団法人生産開発科学研究所 京都府京都市左京区下鴨森本町15番地
(22)出願日	平成8年(1996)4月9日	(72)発明者	山原 條二 滋賀県大津市高砂町23-9

(54)【発明の名称】 抗菌剤およびその製造法

(57)【要約】

【目的】 安全性の高い、天然由来の優れた口腔内有害微生物に対する抗菌剤を提供する。

【構成】 キンマの葉から抽出したキンマエキスを有効成分とする抗菌剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 キンマの生薬または乾燥葉を、水、または有機溶媒を用いて抽出したことを特徴とする抗菌作用を有するキンマエキス。

【請求項2】 請求項1記載のキンマエキスを有効成分とする抗菌剤。

【請求項3】 キンマの生薬または乾燥葉を、キンマの20～40%エタノールもしくはメタノールから選ばれる有機溶媒で抽出し、続いて、該抽出液を濃縮することを特徴とする抗菌作用を有するキンマエキスの製造法。

【発明の詳細な説明】

【産業上の利用分野】

【0001】本発明は、口腔内有害微生物に対し、優れた抗菌作用を有する天然由来の新規な抗菌剤およびその製造法に関するものである。

【従来の技術】

【0002】近年、浄口剤や液体歯磨きが広く使用されるようになったが、これらは単に芳香、清涼感を付与するために芳香性を示す天然物が添加されているに過ぎず、抗菌作用を有するものとはいえない。また、化学合成された口腔内抗菌剤については、周知のごとく既に市般に供されているが、天然由来の口腔内有害微生物に対する抗菌剤については知られていない。本発明は、上記問題点に鑑み、安全性が高い天然由来の新規抗菌剤を提供しようとするものである。

【課題を解決するための手段】

【0003】本発明によれば、上記課題はキンマエキスを有効成分として含んでなる抗菌剤により解決される。

【0004】本発明者は、従来の芳香、清涼感を付与するといった感覚に働きかけるだけに過ぎない天然物の活用を越え、より積極的に口腔内有害菌を殺し、齲歯や歯周病の原因を除去する効果を有し、かつ清涼感を付与できる芳香性を有する天然物を見出すため、系統的な実験研究を重ねた結果、キンマの抽出エキスが安全性が高く、しかも優れた抗菌効果を有するという新知見を得、本発明を完成したのである。

【0005】本発明に使用するキンマ (*Piper betel*) は、中国やインド、スリランカ等に広く分布しているコショウ科に属する常緑の灌木で、湿潤な熱帯常緑樹林中に原生しており、口中を清潔にして口臭を除き、呼吸に爽快感を与えるという効果のあることは知られているが、口腔内有害微生物に対する抗菌作用については全く報告されておらず、また、抗菌剤としての作用についても知られていない。

【0006】本発明者は、キンマ、チョウジ、ショウズク、コウズク、サンナ、ショウキョウ、ボツカレン、ガイヨウ、ダイウイキョウ、ウイキョウ等の天然物エキスについて、それぞれ口腔内有害菌に対する抗菌作用の強弱を評価、検討した結果、キンマエキス、特にキンマの20～40%エタノールもしくはメタノール抽出エキス

が最も優れた抗菌性を有することを確認した。

【0007】キンマの生薬あるいは乾燥葉を粗切りにして、これらの葉の重量の1～3倍量の水またはエタノールもしくはメタノール等の溶媒を使用し、抽出温度20℃から100℃で時々振り混ぜて、2時間から5時間抽出し、次いで抽出液を含む抽出物から抽出液を分別し、減圧下該溶媒を完全に留去することにより、目的とするキンマエキスを得ることができる。

【0008】キンマからのエキスの抽出には、水、エタノール、メタノール、イソプロピルアルコール、ブタノール、酢酸エチル、アセトン等を用いることができるが、これらの溶媒は2種以上組合せて使用しても良く、特に好ましい溶媒は、キンマの20～40%エタノールまたはメタノールである。

【0009】抗菌作用の試験方法は、抗菌力を測定する最も一般的な方法である最小発育阻止濃度測定法: Minimum Inhibitory Concentration (以下、MIC と称する。)を用いた。これは、寒天培地あるいは液体培地中に段階的に希釈した試料を加えて各濃度系列の培地を調製し、一定量の供試菌を接種して培養後、その菌の生育状態より抗菌性物質のMIC を求めるものである。本発明においては、液体培地希釈法を用いた。

【0010】本発明において使用した主な試薬としては、GAM ブイヨン培地 (日水製薬)、ブレインハートインフュージョン (以下、BHI と称する。) 培地 (Difco)、細菌培地用寒天末 (和光純薬)、塩酸テトラサイクリン (和光純薬)、アネロバックケンキく嫌気ガス発生剤 (三菱ガス化学)、生理食塩水 (0.9%食塩水) を挙げることができる。

【0011】菌株としては、歯周病菌① *Fusobacterium nucleatum* IID 891、② *Bacteroides melaninogenicus* GI FU 4637、③ *Porphyromonas gingivalis* GAI 7802、齲歯原因菌④ *Streptococcus mutans* IFD 13955を用いた。

【0012】菌株の前培養については次の通り行った。GAM ブイヨン培地に1.5%となるよう寒天を添加し、高圧蒸気滅菌器で滅菌した (121℃, 15分)。微好気性菌 (*S. mutans*) の場合には、ブレインハートインフュージョン培地に1.5%となるよう寒天を添加し、同様に滅菌した。これらを滅菌シャーレに約20mlずつ分注し、水平に放置して冷却固化させ、GAM寒天平板培地あるいはBHI寒天平板培地を作成した。次に、凍結保存菌株を約30℃の微温湯で融解し、火炎滅菌した白金耳を菌液の中に浸して釣菌し、GAM 寒天平板培地あるいはBHI寒天平板培地に画線塗抹した。これを37℃で嫌気培養、*S. mutans* の場合にはそのままコロニーが出現するまで静置培養した。

【0013】接種用菌液の調製は、10ml GAM ブイヨン培地が入った試験管にアルミキャップをし、高圧蒸気滅菌器により滅菌した (121℃, 15分)。微好気性菌 (*S. mutans*) の試験の場合には10mlのBHI培地を同様

に滅菌した。前培養した1コロニーを白金耳で釣菌し、GAMブイオン培地あるいはBHI培地に接種した後、37℃で嫌気培養した。S.mutansの場合にはそのまま静置培養した。これらをさらに、GAM ブイオン培地あるいはBHI培地に100μl植え継いで、37℃で24時間、同様に培養した。培養後、610nmにおける吸光度を0.3に調製した後、生理食塩水で100分の1に希釈（菌数は10⁶cfu/ml）した液を接種菌液とした。

【0014】試料の調製は、ジメチルスルホオキシドに溶解し、所用濃度に調製した後、滅菌済みのメンブレンフィルターを用いて濾過除菌した。滅菌したジメチルスルホオキシドを用いて濾過除菌した試料を希釈した。2mlのGAM ブイオン培地あるいはBHI培地に試料20μlを加えて被験培地とした。このとき試料の希釈濃度は、500、250（μg/ml）の2倍希釈系列とした（最終濃度）。

【0015】菌の接種および培養は、次のように行った。接種菌液（菌数は10⁶cfu/ml）20μlを前記被験培地に接種し、最終菌液量を10⁴cfu/mlとした。陽性対照として試料不含培地での発育を確認し、対照薬として塩酸テトラサイクリンを用いて試験の制度を確認した。これらを37℃で嫌気培養した。S.mutansの場合*

最小発育阻止濃度（ppm）

*には対照に用いた薬剤不含培地での菌の発育を確認するまで、そのまま静置培養した。

【0016】抗菌作用の判定は、以下の通りに行った。発育養成の判定基準：肉眼的に混濁または沈殿が認められた場合。

発育阻止の基準：肉眼的に混濁または沈殿が認められない場合。

試料希釈系列中に不連続な発育（スキップ現象）が認められた場合は判定を保留とし再検した。再検において不連続な発育が再現された場合には、汚染菌の混入がないことを確かめた後、最終的に発育を阻止した最低濃度をもってMICとした。

【実施例】

【0017】実施例によって本発明の構成、作用を説明すれば次の通りである。

実施例1

粗切りしたキンマの生薬1Kgに対し、溶媒として3lの蒸留水を加え、2時間加熱沸騰させた後、濾過し、減圧下50℃以下で溶媒を完全に留去し、目的とするキンマエキス300gを得た。

【表1】

試料名	F. nucleatum	B. melaninogenicus	P. gingivalis	S. mutans
キンマエキス	>500	>500	>500	>500
キンマ35%メタノールエキス	>500	500	250	500
キンマ95%メタノールエキス	>500	500	500	500
キンマ35%エタノールエキス	>500	500	250	500
キンマ95%エタノールエキス	>500	>500	500	>500

【0018】表1に示したように、キンマやコウズク等に抗菌作用が認められたが、特にメタノールまたはエタノール処理したキンマエキスに優れた抗菌作用を有することが明らかになった。

実施例2

【0019】粗切りしたキンマの生薬1Kgに対し、溶媒として35%および95%のエタノールもしくはメタノール3lを加え、室温で時々振り混ぜて3日間放置後、濾過し、減圧下50℃以下で溶媒を完全に留去し、目的とする35%キンマアルコールエキス約200gおよび ※

※95%キンマアルコールエキス約50gを得た。エタノールであってもメタノールであっても、エキス収率はほぼ同等であった。

【0020】キンマの他、チョウジ、ショウズク、コウズク、サンナ、ショウキョウ、ボツカレン、ガイヨウ、ダイウイキョウ、ウイキョウ等の生薬を用い、実施例1および実施例2と同様の処理を行って、そのそれぞれについて抗菌作用を検討した。

【表2】

最小発育阻止濃度 (ppm)

試料名	<i>P. nucleatum</i>	<i>B. melaninogenicus</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>S. mutans</i>
チヨウジ水エキス	>500	>500	>500	>500
チヨウジ35%アルコールエキス	>500	>500	250	>500
チヨウジ95%アルコールエキス	>500	500	250	>500
ショウズク水エキス	>500	>500	>500	>500
ショウズク35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ショウズク95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
シュクシヤ水エキス	>500	>500	>500	>500
シュクシヤ35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
シュクシヤ95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
コウズク水エキス	>500	>500	>500	>500
コウズク35%アルコールエキス	>500	500	500	>500
コウズク95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
サンナ水エキス	>500	>500	>500	>500
サンナ35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
サンナ95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ショウキヨウ水エキス	>500	>500	>500	>500
ショウキヨウ35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ショウキヨウ95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ボツカンレン水エキス	>500	>500	>500	>500
ボツカンレン35%アルコールエキス	>500	>500	500	>500
ボツカンレン95%アルコールエキス	>500	>500	500	>500
ガイヨウ水エキス	>500	>500	>500	>500
ガイヨウ35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ガイヨウ95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ダイウイキヨウ水エキス	>500	>500	>500	>500
ダイウイキヨウ35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ダイウイキヨウ95%アルコールエキス	>500	500	500	>500
ウイキヨウ水エキス	>500	>500	>500	>500
ウイキヨウ35%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
ウイキヨウ95%アルコールエキス	>500	>500	>500	>500
Tetracycline.HCl	0.25	0.25	0.0625	1.0

【0021】その結果を参考例として表2に示す。このように、抗菌作用については特に優れた効果を得ることができなかった。

【0022】

* 【発明の効果】本発明によれば、実施例にも示した通り、安全性の高い、天然由来の優れた口腔内有害微生物に対する抗菌剤およびその製造法を提供できる。従って、産業上の利用性は非常に高いといえる。

*